

# Brazilian Journal of Development

## Análise Por Infravermelho E Citotoxicidade Das Micropartículas De Óleos Essenciais De *Ocimum Gratissimum* L. E *Cymbopogon Citratus* (D.C.) Stapf

## Infrared And Cytotoxicity Analysis Of Microparticles Of Essential Oils Of *Ocimum Gratissimum* L. And *Cymbopogon Citratus* (D.C.) Stapf

DOI:10.34117/bjdv6n7-206

Recebimento dos originais: 09/06/2020

Aceitação para publicação: 09/07/2020

### **Silvana Silveira de Farias**

Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza - CE, Brasil

E-mail: silvanassf@yahoo.com.br

### **Lucas Mendes Brito dos Santos**

Estudante de Iniciação Científica do Curso de Licenciatura em Química

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza - CE, Brasil

E-mail: lucasmendesbritos@hotmail.com

### **Arcelina Pacheco Cunha**

Doutora em Química

Instituição: Universidade Federal do Ceará

Endereço: Campus do Pici - Bloco 940 - Cx. Postal 6021, Fortaleza - CE, Brasil

E-mail: arcelinapacheco@yahoo.com.br

### **Danielle Ferreira de Oliveira**

Doutora em Biotecnologia

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza - CE, Brasil

E-mail: danielle.oliveira83@gmail.com

### **Rita de Cassia Alves Pereira**

Doutora em Agronomia

Instituição: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Endereço: Rua Dra. Sara Mesquita, 2270 - Campus Pici, Fortaleza - CE, Brasil

E-mail: rita.pereira@embrapa.br

### **Maria Izabel Florindo Guedes**

Doutora em Biotecnologia

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza - CE, Brasil

E-mail: florinfg@uol.com.br

**Nágila Maria Pontes Silva Ricardo**

Doutora em Química de Polímeros

Instituição: Universidade Federal do Ceará

Endereço: Campus do Pici - Bloco 940 - Cx. Postal 6021, Fortaleza - CE, Brasil

E-mail: naricard@ufc.br

**Selene Maia de Moraes**

Doutora em Química

Instituição: Universidade Estadual do Ceará

Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Campus Itaperi, Fortaleza - CE, Brasil

E-mail: selenemaiademoraes@gmail.com

## RESUMO

Os óleos essenciais (OES) de *Ocimum gratissimum* e *Cymbopogon citratus* apresentam diversas ações fitoterápicas. Nesse trabalho o objetivo foi microencapsular os OES destas plantas, para avaliar as características química-biológicas das micropartículas através da análise por infravermelho e pelo ensaio citotóxico. A extração dos óleos se deu por hidrodestilação e a microencapsulação foi realizada em *Spray Drier*. Na análise de infravermelho notou-se que não há aparecimento de novas bandas de absorção, o que é útil nos processos de microencapsulação. O ensaio citotóxico mostrou que não há citotoxicidade das micropartículas nas concentrações testadas. Portanto, as micropartículas estão protegidas e não são tóxicas, características importantes para um produto para ensaios biológicos *in vitro* e *in vivo*.

**Palavras-chave:** Encapsulação. Infravermelho. Citotoxicidade.

## ABSTRACT

The essential oils (OES) of *Ocimum gratissimum* and *Cymbopogon citratus* have several phytotherapeutic actions. In this work, the objective was to microencapsulate the OES, to evaluate the chemical-biological characteristics of the microparticles through infrared analysis and cytotoxic assay. The oil was extracted by hydrodistillation and microencapsulation was carried out in *Spray Drier*. In the infrared analysis, it was noted that there are no new absorption bands, which is useful in microencapsulation processes. The cytotoxic assay showed that there is no cytotoxicity of the microparticles at the concentrations tested. Therefore, the microparticles are protected and non-toxic, which are important characteristics of a product for biological tests *in vitro* and *in vivo*.

**Keywords:** Encapsulation. Infrared. Cytotoxicity.

## 1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OES) consistem em misturas complexas de substâncias voláteis, frequentemente são compostos por mais de 100 compostos terpênicos diferentes, os quais são usados em aplicações farmacêuticas, cosméticas, agrícolas, e indústrias alimentícias (ASBAHANI et al., 2015).

O OE da espécie *Ocimum gratissimum* L., conhecida como alfavaca, possui relatos de ação inseticida (CAVALCANTI et al., 2004), larvicida (FURTADO et al., 2005) e fungicida (LEMOES et al., 2005). O OE da espécie *Cymbopogon citratus*, denominada popularmente como capim-limão e capim-santo, é reportado na literatura tendo atividades anti-inflamatórias, antifúngicas, sedativas, antibacterianas, antivirais e anticarcinogênicas (Lawal et al., 2017; Shah et al., 2011)

Devido à instabilidade dos OES, em relação a volatilidade e processos de oxidação, pesquisas têm avaliado como proteger esses óleos, mascarar sabores ou potencializar uma liberação controlada dos OES. Edris et al. (2016) reportaram a microencapsulação do óleo extraído das sementes do cominho preto, obtido da espécie *Nigella sativa*, o qual foi emulsificado em goma arábica e maltodextrina e posteriormente submetido a técnica de *spray drying*, podendo ser usado em alimentos industrializados com aplicações nutraceuticas. Santiago-Adame et al. (2015) sugerem a microencapsulação de infusões de *Cinnamomum zeylanicum* (canela), em que as microcápsulas protegem o conteúdo fenólico e a capacidade antioxidante.

Diante do avanço nas pesquisas e uso de produtos naturais/fitoterápicos serem frequentes na sociedade é necessário que haja métodos de fiscalização e biossegurança dos medicamentos naturais, desde de sua produção e comercialização (DE MOURA et al., 2020), sendo a encapsulação uma estratégia que confere aos óleos essenciais melhores características de conservação e estabilidade.

Nessa perspectiva, esse trabalho visou microencapsular os OES de *Ocimum gratissimum* L. e *Cymbopogon citratus* com galactomanana extraída da *Delonix regia*, avaliando as características químico-biológicas das micropartículas através da análise por espectroscopia de infravermelho e ensaio citotóxico.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 EXTRAÇÃO DOS OES**

As folhas de *O. gratissimum* L. e *C. citratus* foram utilizadas para extração dos óleos essenciais através do método de hidrodestilação (CLEVENGER, 1928).

### **2.2 EXTRAÇÃO DA GALACTOMANANA DA D. REGIA**

As sementes da *D.Regia* foram selecionadas e submetidas a decocção por 1 hora para inativação enzimática à 98°C, em seguida foram resfriadas por 24 horas para intumescimento das sementes, logo após foi retirado manualmente os endospermas e submetidos a 4 extrações aquosas à 75°C, seguindo a metodologia proposta por Vieira et al (2007).

## 2.2 MICROENCAPSULAÇÃO DOS OES PELA TÉCNICA DE *SPRAY DRYING*

Foi preparada uma solução de galactomanana em água destilada a 60°C até a mistura ser completamente dissolvida, depois foi mantida em temperatura ambiente e adicionado 10% de óleo essencial, a solução foi submetida a microencapsulação por *spray-drying* conforme Carneiro et al. (2013).

## 2.3 ANÁLISE DE ESPECTROSCOPIA POR INFRAVERMELHO (FT-IR)

Os espectros de infravermelho foram realizados em espectrofotômetro Shimadzu FT-IR 8300, as amostras foram trituradas com brometo de potássio (KBr) para obtenção de pastilhas. As bandas de absorção na região do infravermelho foram realizadas de 500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

## 2.4 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE

As amostras foram preparadas dissolvendo as micropartículas de alfavaca (GALF), capim santo (GCS) e galactomanana (G) em meio Leibovitz (L-15, suplementado com 2% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibiótico (penicilina/estreptomicina), os óleos foram dissolvidos em 3 % de Dimetilsulfóxido (DMSO), ambos para obtenção da concentração de 2 mg/mL. Posteriormente, foram filtrados com objetivo de esterilização em filtro de seringa Millipore (0,22  $\mu\text{m}$ ). Foram realizadas diluições seriadas das amostras para obtenção das concentrações de 2.0, 1.0, 0.5, 0.25, 0.125, 0.625, 0.3125, 0.1562 mg/mL, em triplicata.

A viabilidade celular em linhagem de Vero foi avaliada pela técnica do MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-Diphenyltetrazolium Bromide) seguindo metodologia descrita por Marques et al. (2015) e Silva et al. (2011).

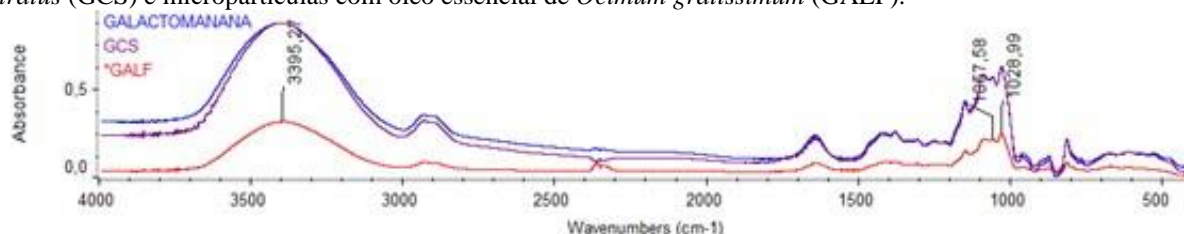
## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O espectro de infravermelho da galactomanana (Figura 1) mostrou uma banda larga de absorção em 3395,27  $\text{cm}^{-1}$  devido ao estiramento vibracional dos grupos (O – H) presente na molécula, na região de 2910  $\text{cm}^{-1}$  houve absorção referente as ligações (C – H). A absorção em 1057,98  $\text{cm}^{-1}$  é relacionada ao estiramento vibracional (C – O) do anel piranose, o pico em 958  $\text{cm}^{-1}$  é atribuído à deformação axial (C – OH) do C – 4 do anel, bandas de absorção em 815 e 876  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas a ligações anoméricas dos grupos  $\alpha$  – D – Galactopiranose e  $\beta$  – D – manopiranose, respectivamente.

Essas duas bandas espectrais corroboram a presença de ligações glicosídicas  $\alpha$  e  $\beta$ , características de polímero tipo galactomanana. As frequências de absorções estão de acordo com

as estruturas típicas de galactomanana da *D.regia* e de outras espécies (CERQUEIRA *et al.*, 2011, FIGUEIRO *et al.*, 2004).

Figura 1. Espectro de Infravermelho da Galactomanana (G), micropartículas com óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (GCS) e micropartículas com óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (GALF).



Nos espectros de infravermelho das micropartículas produzidas com os óleos essenciais (Figura 1) nota-se apenas uma pequena mudança nos valores de absorbância, não há aparecimento de novas bandas de absorção, o que é útil nos processos de microencapsulação, uma vez que não há interação do carreador (galactomanana) com o princípio ativo (óleos essenciais), desta forma assim como Frota *et al.*, 2018 e Sousa *et al.*, 2015, nota-se que a galactomanana de *D. regia* se apresenta como um bom carreador de bioativos, atóxico e sustentável.

O ensaio de citotoxicidade mostrou que a concentração citotóxica (CC50) para o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* foi de 0,94 mg/mL e para o óleo essencial do *Cymbopogon citratus* foi de 1,00 mg/mL. Na avaliação da concentração citotóxica para 50% das células (CC50) as micropartículas de alfavaca e capim santo em células Vero, demonstraram que as micropartículas possuem CC50 = 14 mg/mL e CC50 = 147 mg/mL, respectivamente. As micropartículas não foram tóxicas nas concentrações avaliadas.

#### 4 CONCLUSÕES

A análise por infravermelho das micropartículas mostrou que não há interação entre os OES e a galactomanana utilizada para o encapsulamento e o espectro de infravermelho denotou características de encapsulação dos OES pelo fato de não aparecer novas bandas de absorção. Desta forma, os OES estão conservados dentro da micropartícula, sendo, portanto, viável em se tratando de OES devido sua volatilidade, oxidação, dentre outros. O ensaio de citotoxicidade mostrou que as micropartículas não são tóxicas nas concentrações testadas e que podem ser usadas em ensaios *in vivo* e *in vitro* permitindo uso adequado das propriedades funcionais desses óleos.

**AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem a Fundação Cearense de Apoio à Pesquisa – FUNCAP pelo projeto de pesquisa financiado na Chamada 01/2017, nº3781047/2017 do Programa Pesquisa para o SUS, agradecem ao Laboratório de Polímeros e Inovação da Universidade Federal do Ceará (CAPES/PNPD/UFC), ao Laboratório de Biotecnologia e Biologia Molecular e ao Governo do Estado do Ceará.

**REFERÊNCIAS**

- ASBAHANI, A.L. et al. Essential oils: from extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.
- CAVALCANTI, E.S.B. et al. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.99, n.5, p.541-544, 2004.
- CARNEIRO, H. C. et al. Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. **Journal of Food Engineering**, v. 115, n. 4, p. 443-451, 2013.
- CERQUEIRA, M. A. et al. Structural and thermal characterization of galactomannans from non-conventional sources. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 179-185, 2011.
- CLEVENGER, J. F. Apparatus for the determination of volatile oil. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 17, n. 4, p. 345-349, 1928.
- EDRIS, A. E. et al. Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications. **Food Chemistry**, v. 204, p. 326-333, 2016.
- FIGUEIRO, S. D. et al. On the physico-chemical and dielectric properties of glutaraldehyde crosslinked galactomannan–collagen films. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, n. 3, p. 313-320, 2004.
- FROTA, H. et al. Preparação, caracterização físico-química e liberação controlada de micropartículas de galactomanana contendo alantoína. **Química Nova**, 41(5), 544-549, 2018.
- FURTADO, R.F. et al. Atividade larvica de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L. (Diptera:Culicidae). **Neotropical Entomology**, v.34, n.5, p.843-847, 2005.
- LEMOS, A.J. et al. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.100, n.1, p.55-58, 2005.
- LAWAL, O. A. et al. *Cymbopogon citratus*. In: **Medicinal Spices and Vegetables from Africa**. Academic Press, 2017. p. 397-423.
- MARQUES, M.M.M. et al. Antiviral and antioxidant activities of sulfated galactomannans from plants of caatinga biome. **Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary**

and **Alternative Medicine**, v. 2015, article ID 591214, p. 8, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/591214>

DE MOURA, D. F. et al. A Importância da Biossegurança na Produção e Utilização de Produtos Naturais e Fitoterápicos/The Importance of Biosafety in the Production and Use of Natural and Herbal Products. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 7054-7062, 2020.

SANTIAGO-ADAME. et al. Spray drying-microencapsulation of cinnamon infusions (*Cinnamomum zeylanicum*) with maltodextrin. **LWT-Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 571-577, 2015.

SILVA, A.R.A. et al. Antiviral activities of extracts and phenolic components of two *Spondias* species against Dengue vírus. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 17, n. 4, p. 406-413, 2011.

SHAH, G. et al. Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research**, v. 2, n. 1, p. 3, 2011.

SOUZA, C. A. G. et al. Encapsulação do ácido l-ascórbico no biopolímero natural galactomanana por *spray-drying*: preparação, caracterização e atividade antioxidante. **Química Nova**, v. 38, n.7, p. 877-883, 2015.

VIEIRA, Í. G. P. et al. NMR study of galactomannans from the seeds of mesquite tree (*Prosopis juliflora* (Sw) DC). **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 70-73, 2007.